

46-
86-

**This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

**Defective images within this document are accurate representations of
the original documents submitted by the applicant.**

Defects in the images may include (but are not limited to):

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 06-065013

(43)Date of publication of application : 08.03.1994

(51)Int.Cl.

A01N 63/00

A01N 25/10

A01N 59/16

(21)Application number : 04-236426

(71)Applicant : TAIYO KAGAKU CO LTD

(22)Date of filing : 12.08.1992

(72)Inventor : OKUBO TSUTOMU
KAMIGAKI MASAHIRO
FUJIKI MASARU
KIN BUSAKU

(54) ANTIMICROBIAL PROTEIN

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide an antimicrobial protein which is prepared by allowing a protein to adsorb silver and shows strong antimicrobial activity with high safety.

CONSTITUTION: A variety of proteins, particularly hard protein and vegetable protein are mixed with a variety of silver solutions and recovered by filtration or precipitation with a solvent, washing off the free silver with water or a solvent and dried to give the objective antimicrobial protein. The content of the silver is suitably 0.005 to 10wt.% based on the protein weight. The antimicrobial protein shows high chemical, physical and biological safeties giving no damage to the properties of the original protein and the antimicrobial properties by silver and can be utilized over a wide range of applications.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 28.04.1998

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 2976261

[Date of registration] 10.09.1999

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-65013

(43)公開日 平成6年(1994)3月8日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	FI	技術表示箇所
A 0 1 N 63/00	A	8517-4H		
25/10		7457-4H		
59/16	A	8517-4H		

審査請求 未請求 請求項の数3(全 4 頁)

(21)出願番号 特願平4-236426

(22)出願日 平成4年(1992)8月12日

(71)出願人 000204181

太陽化学株式会社

三重県四日市市赤堀新町9番5号

(72)発明者 大久保 勉

三重県四日市市赤堀新町9番5号 太陽化学株式会社内

(72)発明者 神垣 正宏

三重県四日市市赤堀新町9番5号 太陽化学株式会社内

(72)発明者 藤木 優

三重県四日市市赤堀新町9番5号 太陽化学株式会社内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗菌性蛋白質

(57)【要約】

【目的】 新規な抗菌性を持つ蛋白質に関する。

【構成】 各種蛋白質に銀を吸着させたことを特徴とする抗菌性蛋白質。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 蛋白質に銀を吸着させた抗菌性蛋白質。

【請求項2】 蛋白質が硬蛋白質である請求項1記載の抗菌性蛋白質。

【請求項3】 蛋白質が植物性蛋白質である請求項1記載の抗菌性蛋白質。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は抗菌性蛋白質に関する。

【0002】

【従来の技術】 鶏、牛、豚、蚕等の動物性および大豆、トウモロコシ、小麦等の植物性由来の各種蛋白質は食品、化粧品、医薬品および工業用品等に幅広く使用されている。これら蛋白質は概して環境、特に微生物に対して不安定であり、蛋白質自身もしくは蛋白質を添加した製品の微生物汚染が問題となっている。また、一部の蛋白質や蛋白質の分解物であるペプチドが抗菌性を持つことは公知の事であるが、効果が弱く、その応用範囲は狭い。

【0003】 金属イオン、例えば銀イオン、銅イオン、亜鉛イオン等が抗菌性を有することは公知の事実であり、特に銀イオンは抗菌性が強く、硝酸銀水溶液の形で消毒や殺菌剤として広く使用されている。しかし溶液状では取扱が不便であり使用用途が限られていた。一部、銀イオンをシリカゲル、ゼオライト等の無機物に吸着させた無機系抗菌剤が開示されているが樹脂、塗料、製紙などの工業用に利用されているにすぎない。(特開昭60-100504、特開昭63-265809、特開平3-193701) また、ゼラチン溶液に銀イオンを含ませたものが眼、耳、鼻等の疾患の治療に使われたとの報告がある。(27th. "The United States Dispensary" p1040, 1971) しかし、この物質は水溶性であり、また非常に不安定であることから取扱に不便である。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 このようなことより、用途拡大のため蛋白質自身が抗菌性を持ち、その効果が強く、かつ安定性の高い新規な抗菌性蛋白質が強く求められている。

【0005】

【課題を解決するための手段】 上記課題を解決すべく鋭意研究を行った結果、各種蛋白質、特に硬蛋白質および植物性蛋白質に銀を吸着させた物質が強い抗菌性を示すことをはじめて見だし本発明を完成するに至った。すなわち本発明は蛋白質に銀を吸着させた抗菌性蛋白質を提供するものである。以下、本発明について詳述する。

【0006】 本発明の蛋白質は卵殻膜、羽毛、羊毛、絹およびこれらから分離したコラーゲン、絹フィブロイン、エラスチン等の硬蛋白質である。これら硬蛋白質は水、塩類溶液その他の溶媒に溶けない繊維状の蛋白質であり、非常に安定な蛋白質である。また、本発明の蛋白

質は大豆、トウモロコシ、小麦等の植物性蛋白質、その分解物、もしくは精製物も用いられる。

【0007】 本発明の銀は硝酸銀、硫酸銀、過塩素酸銀、酸化銀、塩化銀、ジアンミン銀硝酸塩、ジアンミン銀硫酸塩等を用いることができる。

【0008】 本発明の抗菌性蛋白質の製造方法は極めて簡単である。すなわち、上述の各種銀溶液に混合し吸着させた後、濾過あるいは溶媒沈澱等により回収する。その後非吸着の銀を水もしくは溶媒により洗い落とし、乾燥することにより本発明品を得ることができる。使用する溶媒は銀化合物の種類により適時選択できる。

【0009】 各種蛋白質に吸着させる銀の含有量は、抗菌性の面から蛋白質重量に対して0.005-10%とすることが適当である。

【0010】 このようにして得られた抗菌性蛋白質は蛋白質の持つ特性および銀の持つ抗菌性は損なわず、化学的、物理的および生物的にひじょうに安定であることから本発明の抗菌性蛋白質は広い分野にその利用が可能である。

【0011】 以下、本発明を実施例および試験例により説明するが、これにより本発明が限定されることはない。

【実施例】

実施例1

0.2 %硝酸銀水溶液 500ml に鶏卵から得た卵殻膜粉末(平均粒度 $10\mu\text{m}$) 100 gを加えて10分間攪拌後、濾過を行い、非吸着の銀がなくなるまで水洗し、最後にアセトンにて脱水・乾燥し本発明の抗菌性蛋白質 101 gを得た。卵殻膜重量当りの銀含有量は原子吸光法によって測定したところ 0.4%であった。

【0012】 実施例2

0.2 %硝酸銀水溶液500ml に牛皮から精製したコラーゲン粉末(平均粒度 $10\mu\text{m}$) 100 gを加えて5分間攪拌後、濾過を行い、非吸着の銀がなくなるまで水洗し、最後にアセトンにて脱水・乾燥し本発明の抗菌性蛋白質95 gを得た。コラーゲン重量当りの銀含有量は原子吸光法によって測定したところ0.11%であった。

【0013】 実施例3

0.2 %硝酸銀水溶液 500ml にトウモロコシから分離したツエイン粉末 100 gを加えて10分間攪拌後、濾過を行い、非吸着の銀がなくなるまで水洗し、最後にアセトンにて脱水・乾燥し本発明の抗菌性蛋白質 105 gを得た。卵殻膜重量当りの銀含有量は原子吸光法によって測定したところ0.18%であった。

【0014】 試験例1. 抗菌性試験

実施例1および2で得られた抗菌性蛋白質の抗菌性試験を下記の方法により行った。試験菌株としてカビ; アスペリギラス ニガー (Asperigillus nigar ATCC3275)、オーレオバシデウム プルランス (Aureobasidium pullulans IF06353)、ペニシリウム シツリナム (P

enicillium citrinum IF07784)、トリコフィトン メ
ンタグロフィテス (Trycophyton mentagrophytes IF058
09)、酵母; サッカロマイセス セルビシエ (Saccharo
myces cerevisiae IF00203)、キャンデイダ アルビカ
ンス (Candida albicans IF01061)、細菌; バチルス
ズブチルス (Bacillus subtilis IF03007)、スタフィ
ロコッカス アウレウス (Staphylococcus aureus IF01
2732)、シュウドモナス アエルギノーサ (Pseudomona
s aeruginosa IF03080)、エスセリシア コリ (Escher
icia coli IF03545)、ストレプトコッカス ミュータ 10
ンス (Streptococcus mutans MT8148)、バクテロイデ
ス ジンジバリウス (Bacteroides gingivalis ATCC3*

*3277)、プロピオニバクテリウム アクネス (Propioni
bacterium acnes GAI5419) を用い、寒天希釈法により
最小生育阻止濃度 (%) を求めた。用いた培地はカビ、
酵母はYM寒天培地 (Difco 社製)、細菌は標準寒天培地
(栄研) もしくはGAM 寒天培地 (栄研) である。

【0015】各種濃度の試料を含む寒天培地を調製し、
その寒天上にあらかじめ増菌用培地で培養した各菌株の
菌液を一白金耳植菌し、それぞれの条件で培養した。培
養後菌の生育状態から最小生育阻止濃度を測定した。結
果を表1に示す。

【0016】

【表1】

試 験 菌 株	最小生育阻止濃度 (%)	
	実施例 1	実施例 2
アスペリギラス ニガー	0.02	2.0
オーレオバシデウム プルランス	0.01	0.5
ペニシリウム シツリナム	0.01	0.5
トリコフィトン メンタグロフィテス	0.01	0.5
サッカロマイセス セルビシエ	0.02	0.2
キャンデイダ アルビカンス	0.02	0.3
バチルス ズブチルス	0.01	0.4
スタフィロコッカス アウレウス	0.005	0.2
シュードモナス アエルギノーサ	0.005	0.2
エスセリシア コリ	0.01	0.3
ストレプトコッカス ミュータンス	0.008	0.2
バクテロイデス ジンジバリウス	0.01	0.3
プロピオニバクテリウム アクネス	0.005	0.2

【0017】試験例2. 吸湿性試験

実施例1で使用した卵殻膜粉末が本来持っている吸湿性
と実施例1で得られた抗菌性蛋白質の吸湿性を調べた。
あらかじめ乾燥し、重量を測定した試料を所定湿度 (6
5, 80, 90%) のデシケーター内に3昼夜放置し、吸湿
後の重量を測定してその差より吸湿率を下記の計算式に

より算出した。

吸湿率 = (吸湿重量 - 乾燥重量) / 乾燥重量 × 100
結果を表2に示す。

【0018】

【表2】

5		6		
湿度 試料	65%	80%	90%	
卵殼膜粉末	19.5	27.0	32.2	
実施例 1	18.9	27.1	32.9	

【0019】試験例3. 安定性試験

実施例1で得られた抗菌性蛋白質について長期間保存し、抗菌性および着色度合等について調べた。抗菌性蛋白質を室温にて半年間、さらに1年間保存した結果、抗菌性は維持されており、着色および変敗臭なども観察されなかった。

【0020】以上の結果より、各種蛋白質に銀を吸着させた本発明の抗菌性蛋白質は優れた抗菌性を持ち、かつこれら蛋白質が本来持っている吸湿性等の性質も合わせ持ち、長期安定性に優れていることが示された。

【0021】

【発明の効果】本発明に用いる各種蛋白質は大量に食品や化粧品分野等に使用されている素材であることからその安全性は極めて高い。従ってこれらの蛋白質に銀を吸着させた抗菌性蛋白質も安全性は高く、かつ抗菌性および安定性に優れ、また蛋白質に本来備わっている性質を合わせ持っている。さらにはその製造方法は極めて簡単である等のことから工業用、医用、化粧品および食品等多方面への応用が可能である。

フロントページの続き

(72)発明者 金 武祐

三重県四日市市赤堀新町9番5号 太陽化学株式会社内